

讃岐うどん調理中のオクラトキシンAの挙動と市販讃岐うどん・そうめん中の オクラトキシンAの汚染調査

光元結花・川村 理

Decrease of ochratoxin A during cooking of Sanuki udon and occurrence of ochratoxin A in commercial Sanuki udon and somen

Yuka Mitsumoto and Osamu Kawamura

Abstract

Ochratoxin A (OTA) is one of the nephrotoxic mycotoxins. OTA is contaminated with cereals such as wheat and corn and these products, coffee and wine. It was reported that the main intake source of OTA in Japan was wheat flour. In Japan, 39% of wheat flour is processed into bread and 53% of wheat flour into noodles. The Sanuki udon is a special product of Kagawa. So, we produced Sanuki udon from OTA-contaminated wheat flour and examined decrease of ochratoxin A during cooking. As a result, OTA did not disintegrate by the 9-minute boiling, which was the most suitable boil time. And 22% of OTA in udon noodle was transfer to boiling water. We analyzed OTA in commercial 35 Sanuki udons and 7 somens by IAC-HPLC method. As a result, OTA was found in any somens. 10 (29%) of Sanuki udons were contaminated with OTA in an average of 0.052 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (max. 0.089 $\mu\text{g}/\text{kg}$). The regulation value of OTA in cereal based process food set by EU is 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The concentration of OTA in Sanuki udon was very lower than the regulation value of EU.

Key words : ochratoxin A, Sanuki udon, somen

緒 言

オクラトキシンA (ochratoxin A, OTA, Fig. 1) は, *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*, *Penicillium verrucosum* などが生産するマイコトキシンで肝臓・腎臓障害などの毒性を有している。OTAは、麦類、トウモロコシ、米、これらの加工品、ワイン、ビール、コーヒー、乾燥果実、肉類など広範囲な食品を汚染している⁽¹⁾。日本国内のOTAの汚染調査の結果⁽²⁾、小麦粉が主なOTAの摂取源であることが示された。小麦粉は、約39%がパン類に、約53%麺類で摂取されている⁽³⁾。また、麺類は、約31%がうどん、約48%がラーメン、約7%がそば、約14%がパスタ・マカロニ類にそれぞれ加工されている⁽⁴⁾。これらの小麦を主原料とする麺類の調理過程でのOTAの挙動に関する報告は限定的である。そこで、香川の特産物

である讃岐うどんに着目して、OTA人工汚染小麦粉で、讃岐うどんを製麺し、調理中OTAの挙動について調べた。OTAの分析は、イムノアフィニティーカラム (IAC)-HPLC法で行った⁽⁵⁾。また、香川県内市販の讃岐うどんとそうめん43検体のOTA汚染調査を行った。

方 法

試験試料

*A. ochraceus*を植菌・培養した小麦を粉碎したOTA汚染小麦粉をうどん用中力粉雪 (日清製粉) で希釈して、 10.8 ± 0.48 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) に調整した。このOTA人工汚染小麦粉を使用し、讃岐うどんを製麺した。また、2014年12月に香川県内で購入した讃岐うどん35検体とそうめん7検体を汚染調査に供試した。

試薬類

OTA標準品は、シグマアルドリッチ社製を用いた。OTAは10 µg/mLになるようにメタノールに溶解し、吸光度を測定し、333 nmのモル吸光係数6,400から濃度を算出した。HPLC移動相には、HPLC用メタノールとアセトニトリル（和光純薬）を用いた。他の試薬は和光純薬の特級試薬を用いた。

讃岐うどんの作製と調理

一般的な讃岐うどんの製法に準じて製麺した。人工OTA汚染うどん用小麦150 gを量り、ふるいにかけて、ボウルに入れた。そこに食塩8.25 gを水66 mLに溶解した食塩水を約半量加え、全体に水を行き渡らせ生地を揉みほぐした後、残りの塩水を加えた。生地を揉みほぐしてできるだけ均一な生地にし、粉っぽさがなくなり全体がしっとりしてきたら、生地を一塊にしてビニール袋に入れ、室温で約1時間熟成させた。熟成させた生地は、ビニールの上から体重を乗せて足で踏み込んだ。生地が平らになったら、生地を折り重ねて再度足踏みした。この足踏みを5回繰り返した。その後、4℃で一晩熟成させた。熟成後、生地を厚さ4 mmまで伸ばし、麺きり包丁で幅3 mmにカットした。

カットした麺を30 gずつにわけ、うどん麺30 gを300 mLの熱湯でそれぞれ3, 6, 9と12分茹でた。それぞれの茹でたうどん麺中及びその茹で汁中のOTAは、以下の方法で抽出・前処理し、IAC-HPLC法で測定した。

うどん麺の抽出と前処理

茹でたうどん麺にメタノール：1%炭酸水素ナトリウム（7：3 v/v）を60 mLを加え、PHOENIX BLENDERで10,300 rpmで1分間攪拌抽出を行った。この抽出液をろ紙（ADVANTEC No.5C）でろ過し、ろ液10 mLにダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を30 mL加え希釈後、3,000 rpmで20分間遠心した。この上清10 mLをIACに負荷した。

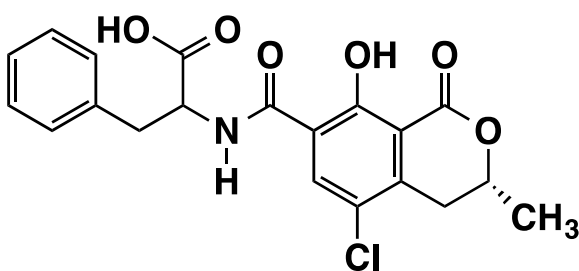


Fig. 1 オクラトキシンの構造式

茹で汁の抽出と前処理

茹で汁全量を減圧乾燥させ、メタノール：1%炭酸水素ナトリウム（7：3 v/v）を60 mL加え、懸濁させた。110 mLのキャップ付きガラス瓶に入れ、200 rpmで30分間振とう抽出した。抽出液をろ紙（ADVANTEC No.5C）でろ過した。このろ液を、上記と同様に処理し、IACでクリーンナップを行った。

IAC-HPLC法

川村らの方法⁽⁵⁾に準拠して行った。すなわち、OTB-2抗体を結合させたゲル0.3 mLを詰めたミニカラムに、PBSを10 mL流して平衡化を行った。次にサンプルを10 mL負荷した。PBS 10 mLでカラムを洗浄後、メタノール3 mLでOTAを溶出し、通気させて溶出液を完全にカラムから除去し、試験管に分取した。溶出液は、減圧乾固後、1 mLのアセトニトリル：水（40：60, v/v）に再溶解し、HPLC分析を行った。HPLCはいずれも（株）島津製作所のシステムコントローラー（SCL-10A_{VP}）、送液ユニット（LC-20AD）、オートインジェクター（SIL-20A_{HT}）、カラムオープン（CTO-10A）、蛍光検出器（RF-20A_{XS}）とカラム（Shim-pack XR-ODS, 3.0 mm i.d.×100 mm）を用い、移動相には、アセトニトリル：水：酢酸（40：58：2, v/v/v）を使用し、注入量は10 µL、流速は0.5 mL/min、カラム温度は50℃、波長は335 nm（励起）、465 nm（蛍光）で行った。

市販讃岐うどんとそうめんの分析

うどん麺と同様に抽出・前処理し、IAC-HPLC法で分析した。

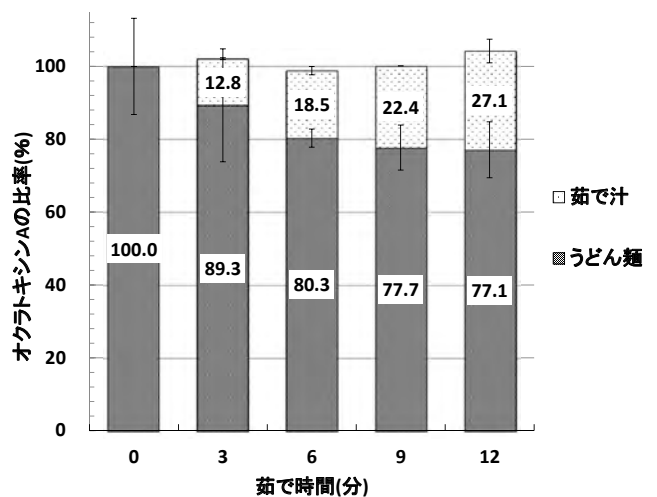


Fig. 2 讃岐うどんの調理（茹で）中のオクラトキシンの挙動

結果および考察

讃岐うどんの調理中OTAの挙動

結果をFig. 2に示した。三回実験を繰り返した結果、うどん麺中のOTAは、食べるのに最適な茹で時間である9分まで減少したが、茹ですぎである12分では、9分とあまり変わらなかった。一方、茹で汁中のOTAを測定した結果、茹で時間に伴い増加した。麺中と茹で汁のOTAの合計量はほぼ一定で、茹で前の麺中のOTA量とほぼ同じであった。これらの結果から、OTAは茹で中で熱分解することはなく、最適茹で時間で約22%のOTAが茹で汁中へ溶け出すことが判明した。

市販うどんとそうめんのOTA汚染調査

次に、香川県内で購入した讃岐うどん35検体とそうめん7検体のOTA汚染調査を行った。その結果をTable 1に代表的クロマトグラムをFig. 3に示した。42検体中10検体(24%)から0.018から0.089 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のOTAを検出した(定量限界0.010 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。そうめん7検体からはOTAは検出されなかった。陽性検体の平均濃度は0.052 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で、不検出の検体は定量限界の1/2 (=0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$)として、算出した全検体の平均濃度は0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。日本にOTAの基準値はないが、EUの設定している穀物加工食品の基準値3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ⁽⁶⁾を大きく下回り、食品衛生上ほとんど問題の無い汚染であった。

また、食品安全委員会の設定したTDIは15 ng/kg体重/日⁽⁷⁾であり、体重53.5 kgとして、1人あたりのTDIは、803 ng/人/日である。最大汚染のうどんは、1玉(200 gとして計算)は、17.8 ngのOTAに汚染されている。よって、TDIを超えるためには、45.1玉(約9 kg)を1日で食べる必要があるが、現実的に不可能な量である。茹で汁中に約22%溶出することから、TDIを超えるためには約54玉以上を食べる必要がある。

以上のことから、香川県内で市販されていたうどんは、低濃度のOTA汚染があるものの健康に悪影響を及ぼす可能性はかなり低いと考えられた。

Table 1 市販うどん・そうめんのOTA汚染調査

区分	サンプル番号	OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	区分	サンプル番号	OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
うどん	1	0.030	うどん	23	ND
	2	0.027		24	0.059
	3	0.018		25	ND
	4	0.036		26	0.089
	5	0.058		27	0.045
	6	0.079		28	ND
	7	ND*		29	ND
	8	ND		30	ND
	9	ND		31	ND
	10	ND		32	ND
	11	0.078		33	ND
	12	ND		34	ND
	13	ND		35	ND
そうめん	14	ND	そうめん	36	ND
	15	ND		37	ND
	16	ND		38	ND
	17	ND		39	ND
	18	ND		40	ND
	19	ND		41	ND
	20	ND		42	ND
	21	ND		陽性検体平均	0.052
	22	ND		全検体平均**	0.016

*ND; 不検出 (< 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限界)

**全検体平均は不検出検体を定量限界の1/2 (= 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$)として計算した。

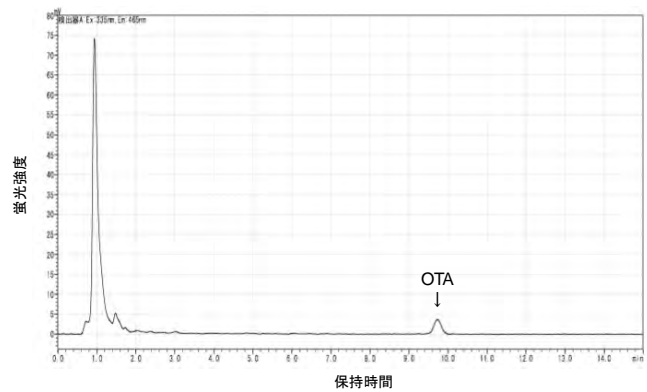


Fig. 3 市販うどん陽性検体(サンプル11)のクロマトグラム

謝 辞

本研究は、日本学術振興会 科学研究費助成金事業基盤C「腎毒性カビ毒オクラトキシンAの麺類製造・調理中の挙動に関する研究」平成26～28年度の助成を受け実施したものであり、日本学術振興会に深く感謝いたします。

摘 要

オクラトキシンA (OTA) は、肝臓毒性を有するマイコトキシンで、麦類などの穀物とこれらの加工品など広範囲な食品を汚染している。日本国内のOTAの主な摂取源は小麦粉であることが報告されている。小麦粉は、約

39%がパン類に約53%が麺類にそれぞれ加工され、摂取されている。そこで、香川の特産物である讃岐うどんに着目して、OTA人工汚染小麦粉で讃岐うどんを製麺し、調理中OTAの挙動について調べた。その結果、調理（茹で）中でのOTAの熱分解はほとんど無く、最適茹で時間である9分でうどん麺中の約22%が茹で汁に溶出することが分かった。また、市販の讃岐うどん（35検体）とそうめん（7検体）のOTA汚染調査を行った。その結果、そうめん7検体からはOTAは検出されなかったが、うどん10検体（29%）から平均0.052 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （最大0.089 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）のOTAを検出した。うどんのOTAの汚染濃度はEUの穀物加工食品の基準値3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を大きく下回り、人への健康被害はほとんど考えられない低濃度の汚染であった。

引 用 文 献

- (1) Duarte, S.C., Pena, A., Lino, C.M. : A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiol.*, 7, 187-198 (2010).
- (2) Aoyama, K., Nakajima, M., Tabata, S., Ishikuro, E., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Fujita, K., Kai, S., Tsutsumi, T., Takahashi, M., Tanaka, H., Iizuka, S., Ogiso, M., Maeda, M., Yamaguchi, S., Sugiyama, K., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S.,: Four-year surveillance for ochratoxin a and fumonisins in retail foods in Japan. *J. Food Prot.*, 73, 344-352 (2010).
- (3) 厚生労働省：平成26年国民健康・栄養調査報告 (2014).
- (4) 農林水産省：米麦加工食品生産動態等統計調査 (2009).
- (5) 川村 理, 鈴木 祐介, 佐々木 絢子：イムノアフィニティーカラム-HPLC法による国内市販コーヒーマグ製品のオクラトキシンAとBの汚染調査, 香川大学農学部学術報告, 67, 47-53 (2015).
- (6) European Commission: Commission regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off J Eur Union*, L364, 5-24 (2006)
- (7) 食品安全委員会：かび毒評価書 オクラトキシンA (2014).